**DELPHION****RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION**
[English](#) | [Japanese](#) | [Deutsch](#) | [Französisch](#)
[My Account](#)Search: [Quick/Number](#) [Boolean](#) [Advanced](#) [Der](#)**The Delphion Integrated View: INPADOC Record**Buy Now: ☒ [PDF](#) | [File History](#) | [Other choices](#)Tools: Add to Work File: [Create new Work](#)View: Jump to: [Ema](#)Title: **JP02500361T2:**Country: **JP Japan**Kind: **T2 Publ. unexam. Pat. Appl. based on Internat. Appl. i**Inventor: **see Assignee**Assignee: **None**Published / Filed: **1990-02-08 / 1987-08-07**Application Number: **JP1987000505077**
 IPC Code: **Advanced: [A61K 38/35](#); [A61P 29/00](#); [C07K 5/08](#); [C07K 5/09](#); [C07K 14/575](#); [A61K 38/00](#);**
Core: [A61K 38/33](#); [C07K 5/00](#); [C07K 14/435](#); more...
IPC-7: [A61K 37/40](#); [C07K 5/08](#);
ECLA Code: **None**
 Priority Number: **1987-08-07 [WO1987US0001994](#)**
1986-08-08 [US1986000894910](#)
1987-07-23 [US1987000076625](#)

 INPADOC Legal Status: **None** Buy Now: [Family Legal Status Report](#)

 Designated Country: **AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE BB BG BR DK FI HU JP KP KR LK**
MC MG MW NO OA RO SD SU

Family:

Buy PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
	WO8800833A3	1988-05-19	1987-08-07	ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATC PEPTIDES
	WO8800833A2	1988-02-11	1987-08-07	ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATC PEPTIDES
	US5157023	1992-10-20	1991-03-21	Antipyretic and anti-inflammatory lys pro compositions and method of use
	US5028592	1991-07-02	1988-08-05	Antipyretic and anti-inflammatory peptide
	JP02500361T2	1990-02-08	1987-08-07	
	EP0317573B1	1992-04-22	1987-08-07	ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATC PEPTIDES
	EP0317573A1	1989-05-31	1987-08-07	ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATC PEPTIDES
	DE3778550C0	1992-05-27	1987-08-07	FIEBER- UND ENTZUENDUNGSCHEMMI PEPTIDE.
				VERWENDUNG VON PEPTIDEN ZUR

<input type="checkbox"/>	CH0676425A5	1991-01-31	1987-08-07	HERSTELLUNG VON ENTZUENDUNGSCHEMMENDEN MITTE
<input checked="" type="checkbox"/>	CH0676425A	1991-01-31	1987-08-07	VERWENDUNG VON PEPTIDEN ZUR HERSTELLUNG VON ENTZUENDUNGSCHEMMENDEN MITTE
<input checked="" type="checkbox"/>	CA1300502A1	1992-05-12	1987-11-17	ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATC PEPTIDES
<input checked="" type="checkbox"/>	AU7851687A1	1988-02-24	1987-08-07	ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATC PEPTIDES
<input checked="" type="checkbox"/>	AU0604751B2	1991-01-03	1987-08-07	ANTI-INFLAMMATORY PEPTIDES
<input checked="" type="checkbox"/>	AT0075145E	1992-05-15	1987-08-07	FIEBER- UND ENTZUENDUNGSCHEMMI PEPTIDE.

14 family members shown above

Other Abstract
Info:

CHEMABS 110(13)109081T DERABS C88-049868

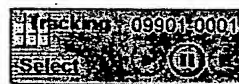


Nominate this for the Gallery...

THOMSON

Copyright © 1997-2007 The Thoi

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact U](#)

DELPHION**RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION**
[Home](#) [Work Files](#) [Saved Searches](#)
[My Account](#)Search: [Quick/Number](#) [Boolean](#) [Advanced](#) [Der](#)**Derwent Record**[En](#)View: [Expand Details](#) Go to: [Delphion Integrated View](#)Tools: [Add to Work File:](#) [Create new Wor](#)

? Derwent Title: **Use of alpha-melanocyte stimulating hormone and smaller peptide(s) - contg. specified amino acid sequence, as anti-inflammatory and antipyretic agents**

? Original Title: **WO8800833A2: ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATORY PEPTIDES**

? Assignee: **LIPTON J M** Individual
UNIV OF TEXAS SYSTE Standard company
 Other publications from [UNIV OF TEXAS SYSTE \(TEXA\)...](#)
UNIV TEXAS SYSTEM Standard company
 Other publications from [UNIV TEXAS SYSTEM \(TEXA\)...](#)

? Inventor: **LIPTON J M; LIPTON M J;**

? Accession/Update: **1988-049868 / 198807**

? IPC Code: **A61K 37/02 ; C07K 5/08 ;**

? Derwent Classes: **B04; B03;**

? Manual Codes: **B04-B02D4(Pituitary gland hormones) , B04-C01A (Polypeptides with 3 to 5 alpha amino acid residues) , B04-C01B(Polypeptides with 6 to 10 alpha amino acid residues) , B04-C01C(Polypeptides with 11 to 15 alpha amino acid residues) , B05-A03A(Mn, Fe, Cu, Zn, Hg metals and compounds) , B07-D03(Pyrrolidine) , B12-D07 (Antiinflammatory) , B12-D08(Antipyretic)**

? Derwent Abstract: **(WO8800833A)** A peptide having from 3 to 13 amino acids in a sequence corresponding to alpha-Melanocyte Stimulating Hormone (alpha-MSH) and which includes the sequence Lys-Pro-Val is used in the prepn. of a medicament for treating inflammation.
 Specified peptides are alpha-MSH itself and, pref., the tripeptide Lys-Pro-Val. This is pref. protected e.g. acylated, esp. acetylated, at its amino terminus and/or amidated at its carboxy terminus. It may be isolated from natural sources or chemically synthesised. Thus, it may be isolated from MSH by totally digesting this with chymotrypsin to give as one of four major prods., the tetrapeptide, Gly-Lys-Pro-Val, then removing the glycine residue by partial acid hydrolysis.
Use - The peptide is used to treat pyrexia and/or inflammation. It may be used in the treatment of both generalised and localised inflammation and is therefore useful alternative to steroidal and salicylate anti-inflammatory agents.
 , [Dwg.0/2](#), [Dwg.0/2](#)

? Family:

PDF Patent	Pub. Date	Derwent Update	Pages	Language	IPC Code
WO8800833A *	1988-02-11	198807	28	English	A61K 37/02
Des. States: (N) AT AU BB BG BR CH DE DK FI GB HU JP KP KR LK LU MC MG MW NL NO RO SD SE SU (R) AT BE CH DE FR GB IT LU NL OA SE					
Local appls.: WO1987US0001994 Filed:1987-08-07 (87WO-US01994)					

☒ **US5157023** = 1992-10-20 199245 9 English A61K 37/02

Local appls.: Div ex US05028592 (US 5028592)
US1991000672965 Filed:1991-03-21 (91US-0672965)
 Div ex US1988000229331 Filed:1988-08-05 (88US-0229331)
 Cont of US1987000076625 Filed:1987-07-23 (87US-0076625)
 CIP of US1986000894910 Filed:1986-08-08 (86US-0894910)
 CIP of US1984000643023 Filed:1984-08-21 (84US-0643023)

☒ **DE3778550G** = 1992-05-27 199223 German A61K 37/02

Local appls.: Based on EP00317573 (EP 317573)
 Based on WO08800833 (WO 8800833)
DE1987003778550 Filed:1987-08-07 (87DE-3778550)
EP1987000905539 Filed:1987-08-07 (87EP-0905539)
WO1987US0001994 Filed:1987-08-07 (87WO-US01994)

☒ **CA1300502C** = 1992-05-12 199225 English A61K 37/02

Local appls.: CA1987000552067 Filed:1987-11-17 (87CA-0552067)

☒ **EP0317573B** = 1992-04-22 199217 10 English A61K 37/02

Des. States: (R) AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

Local appls.: EP1987000905539 Filed:1987-08-07 (87EP-0905539)

☒ **CH0676425A** = 1991-01-31 199108 German A61K 37/02

Local appls.:

☒ **JP02500361W** = 1990-02-08 199012 English A61K 37/40

Local appls.: JP1987000505077 Filed:1987-08-07 (87JP-0505077)

EP0317573A = 1989-05-31 198922 English A61K 37/02

Des. States: (R) AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

Local appls.: EP1987000905539 Filed:1987-08-07 (87EP-0905539)

AU8778516A = 1988-02-24 198820 English

Local appls.:

☒ INPADOC
 Legal Status:

☒ First Claim:
 Show all claims

☒ Priority Number:

[Show legal status actions](#)

CLAIMS

Application Number	Filed	Original Title
<u>US1991000672965</u>	1991-03-21	ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATORY LYS PRO VAL COMPOSITIONS AND METHOD OF USE
<u>US1988000229331</u>	1988-08-05	ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATORY PEPTIDES
<u>US1987000076625</u>	1987-07-23	
<u>US1986000894910</u>	1986-08-08	
<u>US1984000643023</u>	1984-08-21	

☒ Chemical
 Indexing Codes:

☒ Markush [Show Markush numbers](#)

[Show chemical indexing codes](#)

Compound
Numbers:
Citations:

PDF	Patent	Original Title
		Msg: 3.Jnl.Ref
		Msg: No-SR.Pub

Title Terms: ALPHA MELANOCYTE STIMULATING HORMONE SMALLER PEPTIDE CONTAIN
SPECIFIED AMINOACID SEQUENCE ANTI INFLAMMATION ANTIPYRETIC
AGENT

[Pricing](#) [Current charges](#)

Derwent Searches: [Boolean](#) | [Accession/Number](#) | [Advanced](#)

Data copyright Thomson Derwent 2003

THOMSON



Copyright © 1997-2007 The Tho

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact U](#)

Ref. X

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公表

⑫ 公表特許公報(A)

平2-500361

⑬ 公表 平成2年(1990)2月8日

⑭ Int. Cl.³
A 61 K 37/40
// C 07 K 5/08

識別記号
A B E

庁内整理番号
8615-4C
8318-4H

審査請求 未請求
予備審査請求 有

部門(区分) 3(2)

(全 11 頁)

⑯ 発明の名称 解熱及び抗炎症性ペプチド類

⑰ 特 願 昭62-505077

⑱ 出 願 昭62(1987)8月7日

⑲ 翻訳文提出日 平1(1989)2月8日

⑳ 国際出願 PCT/US87/01994

㉑ 国際公開番号 WO88/00833

㉒ 国際公開日 昭63(1988)2月11日

優先権主張 ㉓ 1986年8月8日 ㉔ 米国(US) ㉕ 894,910

㉖ 発 明 者 リプトン、ジェームズ、エム.

アメリカ合衆国 テキサス州、ダラス、ロイヤル、スプリングス、
ドライブ、100662

㉗ 出 願 人 ボード、オブ、リージェンツ
ザ、ユニバーシティー、オブ、
テキサス、システム

アメリカ合衆国テキサス州、オースチン、ウェスト、セブンス、ス
トリート、201

㉘ 代 理 人 弁理士 佐藤 一雄 外2名

㉙ 指 定 国

A T, A T (広域特許), A U, B B, B E (広域特許), B G, B J (広域特許), B R, C F (広域特許), C G (広域特許), C H, C H (広域特許), C M (広域特許), D E, D E (広域特許), D K, F I, F R (広域特許), G A (広域特許), G B, G B (広域特許), H U, I T (広域特許), J P, K P, K R, L K, L U, L U (広域特許), M C, M G, M L (広域特許), M R (広域特許), M W, N L, N L (広域特許), N O, R O, S D, S E, S E (広域特許), S N (広域特許), S U, T D (広域特許), T G (広域特許)

最終頁に続く

請 求 の 範 囲

明 細 書

1. 炎症治療用薬剤の製造に際する、 α -MSHの
配列に相当する配列でアミノ酸3~13個を有するペ
プチドの用法であって、

ペプチドがLys-Pro-Val 配列を含んでいることを特徴
とする用法。

2. ペプチドが α -MSHである、請求項1に記載
の用法。

3. ペプチドがトリペプチドである、請求項1に記
載の用法。

4. トリペプチドがそのアミノ又はカルボキシ末端
で保護されている、請求項3に記載の用法。

5. 保護トリペプチドがそのアミノ末端でアシル化
されているか又はそのカルボキシ末端でアミド化されて
いる、請求項4に記載の用法。

6. トリペプチドがそのアミノ末端でアシル化され
かつそのカルボキシ末端でアミド化されている、請求項
5に記載の用法。

7. トリペプチドがそのアミノ末端でアセチル化さ
れかつそのカルボキシ末端でアミド化されている、請求
項6に記載の用法。

解熱及び抗炎症性ペプチド類

本発明は発熱及び炎症の治療に有用な新規医薬組成物
に関する。更に詳しくは、本発明は解熱及び抗炎症剤と
して確認されたACTH及び α -メラニン細胞刺激ホル
モン中に含まれるトリペプチド配列に関する。

解熱剤として現在常用されている薬剤としては、サリ
チレート類及びp-アミノフェノール誘導体の2クラス
がある。アセチルサリチル酸(即ち、アスピリン)で特
徴付けられるサリチレート類は、最も常用されている解
熱剤である。アスピリンはサリチレート類及び類似作用
をもつ他の薬剤双方の原型であって、これら薬剤の比較
及び評価のための参照標準である。アスピリンの解熱作
用は、発熱患者において通常速効的かつ効果的である。
サリチレート類は、“サーモスタット”を正常温度にリ
セットするように作用する。

アスピリンは大半の個人において通常十分に耐えられ
るものであるけれども、いくつかの毒性副作用がその使
用に付随している。サリチレート起因性胃潰瘍形成及び
時には出血が具体的な懸念事である。消化性潰瘍症状
(胸やけ、消化不良)の悪化、胃腸出血及びびらん性胃
炎はすべてアスピリン服用患者において報告されている。

他の一般的副作用としては、耳鳴り及び聴覚低下、酸塩基バランス及び電解質パターンの変化、並びに呼吸アルカローシスがある。一般的にこのような副作用は特に危険というわけではないが、それらは患者の応答を困難にする傾向がある。通常解熱及び／又は抗炎症活性のために用いられる他のサリチレート誘導体は、アスピリンと比べて高い毒性を有することが判明している。

p-アミノフェノール誘導体、アセトアミノフェン及びフェナセチンは、その解熱及び抗炎症用としてアスピリンの代替物である。アセトアミノフェンは全体的毒性がやや低く、フェナセチンよりも通常好ましい。アセトアミノフェンは十分に耐えられしかもアスピリンの望ましくない作用の多くを欠いているため、それは“常備家庭解熱剤”として好評を得ていた。しかしながら、この目的におけるその適合性には疑問がある。即ち、急性の過剰投与時にアセトアミノフェンは致死的な肝ネクロシスを引き起こしうるからである。しかも、フェナセチンは急性毒性として、但し更に一般的には長期過剰投与の結果としてメトヘモグロビン血症及び溶血性貧血を引き起こす。これらの薬剤は、発熱の治療に関してアスピリンとはほぼ同等の効力を有する。

α -メラニン細胞刺激ホルモン（以下、“MSH”と称する）の研究に関する最近の進展で、このタンパク質が発熱の治療に有効であることを立証した。 α -MSH

も促進し、かつ繰返し投与時にクッシング症候群を引き起こすことがある。他方、ACTHから得られる更に短い α -MSH分子はステロイド放出を促進せず、ウサギ又はヒトに投与された場合に不可逆的な有害作用は存在しないようである。

ACTH（プロオピオコルチンのアミノ酸1-39）に関して、その副腎皮質ステロイド刺激作用のせいでこのタンパク質が炎症の治療に有効であることは以前から知られていた。しかしながら、副腎皮質刺激活性を示さない α -MSH（ACTHのアミノ酸1-13）のような更に短いACTH関連ペプチドが抗炎症作用を有することは示されておらず、ACTHのアミノ末端部分に相当する副腎皮質刺激活性を示さないペプチドのかかる役割について示唆するような根拠は以前に存在していなかった。

本発明は発熱及び炎症の治療に有用な医薬組成物を提供する。この医薬組成物の活性成分は、 α -MSHのアミノ酸11-13、即ちリシン・プロリン・バリン（“Lys-Pro-Val”）に相当するアミノ酸配列を含んだペプチドである。その最も一般的な範囲において、本発明はアミノ酸3-13のペプチドに関するが、そのペプチドは α -MSHの場合に相当する配列を有しかつ少なくともそのLys-Pro-Val配列を含んでいる。更に具体的な態様において、本発明はトリペプチド自体に関する。

は、副腎皮質ホルモン（“ACTH”）由来の13アミノ酸ペプチドである。MSH及びACTHはいずれも体温を調節するうえで有効な13アミノ酸配列を共有している。これらのニューロペプチドは体温の中樞コントロールを含めた中枢調節プロセスに影響を与えている、という証拠がある。双方のペプチド共、十分な投与量で末梢又は中枢から投与された場合に、無熱ウサギのコア温度を低下させる。更に著しく少量の投与量では、正常な温度を変えることなく熱を低下させる。

α -MSHは、温度調節を支配する前視床下部及び中隔を含めた脳領域に存在している。中隔における α -MSHの濃度は発熱時に上昇し、弓状核中の濃度は同時に低下する傾向がある。中枢投与 α -MSH対常用解熱剤アセトアミノフェンの解熱活性比較研究では、 α -MSHが熱低下に関してアセトアミノフェンよりも著しく有効であつてしかも熱低下に関してアセトアミノフェンよりも2500倍以上有効であることを示している。ACTH以外の内因性物質で熱低下に関しこのような効力を有しているものは知られていない。

α -MSHの解熱効力及びこのペプチドが末梢投与された場合であっても熱を低下せうという事実は、臨床重要であろう。ACTHはそれが最初に掲載された後直ちに臨床的及び実験的発熱を低下させるために用いられたが、但しこのペプチドは副腎皮質ステロイド放出

好ましくは、トリペプチド自体が好ましくは生物学的に“保護された”形で本発明に従い最大の効果を発揮するように投与される。トリペプチドがアミノ末端のアシル化及び／又はカルボキシル末端のアミド化により“保護”されている場合には、得られるトリペプチドは薬理活性を増加させている。同様に、トリペプチドが“保護”又は“非保護”にかかわらず銅イオンと共に同時投与された場合には、更に解熱活性の増加が観察される。

本発明は治療を要する個体における発熱及び／又は炎症の治療方法を提供するが、この方法ではトリペプチド配列を含んだペプチドの有効量が発熱個体に投与される。更に、このようなペプチドは全身性又は局所性双方の炎症の治療に用いられることから、ステロイド及びサリチレート抗炎症剤の有用な代替物である。抗炎症活性は、解熱作用を証明するための場合とはほぼ同等の又はそれ以上の用量で動物にトリペプチドを投与し、治療すべき及びコントロールの動物の炎症侵襲に対する反応性を試験することにより観察される。したがって、本発明のペプチドは、必要な患者に選択的な用量で投与された場合に、解熱及び抗炎症剤の双方として使用される。

本発明の具体的な態様において、例えば炎症性膨脹及び／又は毛細血管透過性の減少のような抗炎症活性の発現のために有効なトリペプチド用量は、抗炎症活性用として受入れられた標準たるヒドロコルチソンの場合と重量

ベースでおおよそ同じであることが示されている。感受性“皮膚発育”アッセイが、ヒスタミンのような起炎剤の毛細血管透過作用を阻害しうるトリペプチドの能力を調べるために用いられた。このアッセイにおいて、保護されたLys-Pro-Val トリペプチドは抗ヒスタミン作用を示し、特に保護トリペプチド1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重ほどの低い静注投与量で毛細血管透過性に関するヒスタミン媒介増加の抑制を示した。しかも、伝統的カラゲナン/ラット足浮腫試験において、腹腔内投与されたトリペプチドは、ヒドロコルチゾンの場合と同等の重量ベースでラット足のカラゲナン起因性膨脹を阻害しうる能力を示した。したがって、このような観察から、トリペプチドLys-Pro-Val は1~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重ほどの低い投与範囲から好ましくは約0.2~3 mg/kg /日程度の範囲までで患者に投与された場合には有効な抗炎症剤である、と結論付けることができる。

第1図： α -MSHのアミノ酸配列

第2図：ラットにおけるAc-Lys-Pro-Val-NH₂ (100 mg/kg) 及びヒドロコルチゾン (100 mg/kg) により生じる足膨脹の阻害比較。各評点は、対照コントロール足容量の変化と比較した場合の足容量の平均変化率%である。

本発明の実施に際して用いられたペプチドとしては、リシン・プロリン・バリン配列がある。このトリペプチド

質を4つの更に小さなペプチドに断片化することにより行われる。消化産物のペーパー電気泳動では4種の主産物を生じるが、そのうち1つは直接使用可能なテトラペプチド：グリシン・リシン・プロリン・バリンである。しかしながら、グリシン残基はトリペプチドを得るために部分的酸加水分解によって除去してもよい。

本発明のペプチド類は化学的合成によって得ることができる。これは、適切なアミノ酸間のペプチド結合形成によって行われる。アミノ酸は酸性(-COOH)部分及び弱塩基性(-NH₂)部分の双方を有する両性分子である。したがって、ペプチド結合形成(-CONH-)はカルボキシル官能基に対するアミノ基の求核的攻撃によって行われる。

2つの仮定的アミノ酸X及びY間でペプチド結合を形成させる場合には、4種の可能なジペプチドX-Y、Y-X、Y-Y及びX-Xが得られる。したがって、このような相互作用から形成される可能性のある構造数を減らすためには、適切なアミノ酸のアミノ又はカルボキシル末端は“保護された”部分を含む反応を防止しうるように最初に“保護”されていなければならない。例えば、“c”が保護カルボキシル末端を表しかつ“n”が保護アミノ末端を表す場合には、cX及びYnの相互作用で1つの構造cX-Ynのみを生じる。

しかしながら、合成目的の場合に化学的に有用である

配列は下記特徴を有する。

その天然形において、トリペプチド配列(リシン・プロリン・バリン)は α -メラニン細胞刺激ホルモン(以下“MSH”)及びACTHのアミノ酸番号11-13である。この発見はACTH(プロオピオコルチンのアミノ酸番号1-24)及びMSH(ACTH及びプロオピオコルチンのアミノ酸番号1-13;第1図参照)のアミノ末端部分の解熱活性を説明しているが、その双方共それらの構造中に本トリペプチド配列を示している。したがって、MSH及びACTHの双方とも解熱性トリペプチドがそこから得られる有効な天然源であるが、 α -MSHの場合にはさほど好ましい態様でないとしても直接使用することができる。

ACTHはクッシング症候群を引き起こしうるほど高い副腎皮質刺激作用を有していることから、本発明はペプチドが少なくともLys-Pro-Val配列を含んでいる限り通常 α -MSH及びそのペプチドに関する。これは、 α -MSH(ACTHのアミノ酸1-13)がACTHの副腎皮質刺激作用を示さず、代わって副腎皮質ステロイド中間体を介さないで直接それらの抗炎症作用を発揮しているらしいという発見に基づいている。

好ましい態様の場合、トリペプチドはMSHから単離することができる。これは最初にタンパク質分解酵素キモトリプシンによる全体的消化を介してMSHタンパク

ためには、保護基は除去可能でなければならない。一般に、カルボキシ基は-COOHから-COOアルキル又は-CONH₂へのエステル化又はアミド化によって保護される。カルボキシル末端用に好ましいアルキル基としてはメチル及びベンジル残基があるが、しかしながらエチル、プロピル、ブチル、p-ニトロベンジル又はp-メトキシベンジル基のような他のアルキル基も利用可能である。

同様に、アミノ末端はアシル化によりアセチル基、t-ブトキシカルボニル基、t-アミルオキシカルボニル基、o-ニトロフェニルスルフェニル基、ベンジルオキシカルボニル基、p-ニトロベンジルオキシカルボニル基、トシル又はホルミル基のようなカルボキシル基を導入して保護される。

保護基は性質上官能基としても機能しうる。ペプチドのアミノ末端に結合されたアセチル基及びカルボキシル末端に結合されたアミド官能基を有する生物活性ペプチドは、酸加水分解を受けにくい。しかも、このような基は酵素攻撃及び分解に対する“保護”ペプチドの感受性を低下させる役割があると推測された。したがって、“保護”トリペプチドはこれらの保護基を有するように合成された。この保護トリペプチドは非保護トリペプチドよりも高い薬理学的活性を有している。

トリペプチドの様々な異なる薬理作用、即ち抗炎症及

解熱は、許容される薬理学的アッセイの利用により本発明で立証されている。例えば、解熱作用はインビボウサギ発熱アッセイで立証されるが、このアッセイでは保護トリペプチド(アセチル-Lys-Pro-Val-NH₂)が次第に増量されながら発熱物質導入ウサギに投与された。このアッセイにおいて、非保護トリペプチドの場合には10 μ g~100mg/kg程度の有効用量範囲が観察され、全体的用量依存的にコントロールよりも約25~約70%程度熱を低下させた。しかも、保護トリペプチド(ジアセチル-Lys-Pro-Val-NH₂)の場合には重量ベースで非保護種の活性よりも約2倍の活性を示した。

トリペプチドの抗炎症作用は、組織膨脹(例えば、局所性浮腫)及び毛細血管透過性を含めた炎症の様々な総合的症状を阻害する試験薬の能力を問うるように考察された許容されるインビボアッセイで立証される。

1つのアッセイ、即ち皮膚発赤試験によって、トリペプチドが外来性ヒスタミンの効果を遮断するその作用によりヒスタミンの毛細血管透過作用を阻害するその能力に関して試験された。このアッセイを用いて、本発明者により低量の薬剤に感受的であることが判明し、即ち保護トリペプチド約1 μ g/kg程度の低い投与量で生体染色に対するヒスタミン媒介性血管透過性上昇の低下から測定されるような証明可能な効果を発現することが見出された。

本発明では、例えば筋肉内又は静脈内のように非経口的にトリペプチドを投与することが通常好ましい。しかしながら、その低分子量、膜透過性及び比較的酸不安定な構造に基づき、本トリペプチドは若干高用量となるが経口投与も可能である。この場合には、約0.2~約3.5mg/kg/日程度の用量で本発明の効果を得ることができると考えられる。

トリペプチド、好ましくはジアセチル-Lys-Pro-Val-NH₂のような保護トリペプチドの医薬製剤は、通常薬学上許容される緩衝液、希釈剤、安定化剤等と共に活性剤を含有している。許容される医薬組成物の製造に際して有用な様々な薬剤及び添加剤を含めた各種技術のほぼ完全なリストに関しては、参考のため本明細書に組込まれるレミントンの医薬科学、第16版、1980年、マック・パブリッシング社(Mack Publishing Co.)を参照することができる。

好ましい医薬組成物の場合、約100~500mgのジアセチル-Lys-Pro-Val-NH₂がほぼ中性のpHを保つために薬理学上許容される緩衝液を含めた無菌等張塩水約1~7cc中に分散される。静注投与の場合には、例えば関節炎、重度アレルギー反応又は炎症過程に伴う様々な他の疾患がある患者に、(数時間以内の)時間にわたって緩徐な注入により約0.2~約3.5mg/kg/日の薬

カラゲナン/ラット足浮腫アッセイとして当業界で知られる第二の試験では、本トリペプチドは周知の抗炎症剤ヒドロコルチゾンの場合にほぼ匹敵する抗炎症作用を発揮することが示されている。このアッセイにおいて、ラットには最初にコントロール(塩水)、トリペプチド又はヒドロコルチゾンのいずれかが等しい腹腔内用量で投与される。次いで、ラットの足が抗原性物質、通常カラゲナンで侵襲され、発生した膨脹量が測定され、データが比較される。このようなアッセイから、ほぼ等量の保護トリペプチド(ジアセチル-Lys-Pro-Val-NH₂)及びヒドロコルチゾンがカラゲナン起因性膨脹度の減少に関してほぼ同等の全般的応答性を示すことが見出された。

前記の及びそれ以外の観察に基づき、保護トリペプチド0.2~約3mg/kg体重/日程度の投与量で効果的抗炎症作用に関し本発明の効果を発揮することが判明している。通常、最大度の抗炎症効果を得るためには、保護トリペプチド0.35~約1.5mg/kg体重/日程度の用量を投与することが好ましいであろう。これらの用量範囲は、トリペプチド及びヒドロコルチゾンがほぼ同効力であるという前記観察並びにヒドロコルチゾンの有効用量範囲に関する当業界の常識から導かれている(例えば、グッドマンら、1985年、治療の薬理学的基礎、第7版(Goodman et al.(1985).The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7th Edition)参照)。

剤を投与することが通常望ましい。注入が実際的でない場合には、薬剤は好ましくは親油性担体と共に若干高用量で筋注の形で投与される。軽度~重度の関節炎症状の治療の場合には、約0.3~1.5mg/kg/日、好ましくは約0.5~約0.6mg/kg/日程度の非経口的用量が通常勧められる。しかしながら、重度のアレルギー反応の場合には、約2.5~約4mg/kg/日程度の高用量が必要であろう。

多くの変更が本発明のペプチドのアミノ酸配列に関し可能でありかつそれによってもなお生物学上機能的な同等の薬理活性を示すタンパク質を得ることができる、と考えられている。例えば、あるアミノ酸は同様の水治療インデックス(hydropathic index)を有する他のアミノ酸で代用されてもなおタンパク質の生物学的活性を留めていることは、カイトら、1982年、ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー、第157巻、第105頁[Kyte et al.(1982).Journal of Molecular Biology, 157:105]から判明する。下記表で示されているように、アミノ酸はそれらの疎水性及び荷電特性に基づき水治療インデックスが決定されている。アミノ酸の相対的水治療特性が得られるタンパク質の二次構造を決定しており、ひいてはタンパク質とそのレセプターとの相互作用についても決定していると考えられる。

本ペプチドの場合には、生物学的機能同等物は類似の

水治療値を有するアミノ酸置換によって得られると考えられている。本明細書で用いられている生物学的機能同等物とは、生物学的機能同等性に関して機能上同等であるタンパク質として定義され、かつ生物学的活性に関して機能上同等であるタンパク質として定義される。例えば、イソロイシン及びロイシンは各々+4.5及び+3.8の水治療インデックスを有しており、バリン(+4.2)の代替可能であって、同様の生物学的活性を有するタンパク質をなおも得ることができる。一方、尺度上の他端において、リシン(-3.9)はアルギニン(-4.5)等で代替可能である。一般に、アミノ酸はかかるアミノ酸が代替アミノ酸として水治療インデックス単位で約+/-1以内の水治療値を有している場合にうまく代用することができる。

下記例は、好ましいトリペプチド及び様々な“保護”種の製造、並びにその活性を証明するうえで許容される様々なインビボアッセイにおけるトリペプチドの用法を説明するために本発明者により実施された実験について示している。これらの例は説明のためのみであって、各種バリエーションがそれに照らしてかつ当業界の技術レベルに照らして可能であることは明らかであろう。例えば、異なる配列又はより長いもしくは短いペプチド鎖長を有するペプチドが望まれる場合、通常下記のような操作が用いられることは当業者にとって明らかであろう。したがって、Arg-Pro-Val配列(Lys-Pro-Valの生物学的機能同等物)が望ましい場合には、ジベンジルオキシカルボニル化アルギニン(“Z-Arg”)が“Z-Lys”の代わりに用いられるべきであることは明らかであろう。更に、例えばGly-Lys-Pro-Valが望まれる場合には、“Z-Gly”が出発試薬として用いられるべきであって、Lys、Pro及びVal残基を各々順次加える合成工程が前記のように用いられることは明らかであろう。様々なペプチドを得るためのこれらの及び他のすべての修正法は周知であって、当業者にとり明らかであろう。

アミノ酸	水治療インデックス
イソロイシン	4.5
バリン	4.2
ロイシン	3.8
フェニルアラニン	2.8
システイン/シスチン	2.5
メチオニン	1.9
アラニン	1.8
グリシン	-0.4
トレオニン	-0.7
トリプトファン	-0.9
セリン	-0.8
チロシン	-1.3
プロリン	-1.6
ヒスチジン	-3.2
グルタミン酸	-3.5
グルタミン	-3.5
アスパラギン酸	-3.5
アスパラギン	-3.5
リシン	-3.9
アルギニン	-4.5

例1: L-リシン-L-プロリン-L-バリンの化学的合成

トリペプチドは、下記のようにカリフォルニア州トルランス(Torrance)のパチェム社(Bachem, Inc.)により外注合成された:

1. Z-Lys-Pro-OMeの製造

塩化メチレン200ml中ジベンジルオキシカルボニル化リシン(“Z-Lys”)50mmol(20.7g)をジメチルホルムアミド100ml中プロリンメチルエステル(Pro-OMe)50mmol(8.3g)と混合した。混合物を円錐フラスコに加え、攪拌下-5℃に冷却した。N-メチルモルホリン50mmol(5.5ml)を加え、しかる後塩化メチレン20ml中ジクロヘキシルカルボジイミド10.3gを加え、反応混合物を一夜攪拌した。次いで、混合物から尿素を除去し、遊液を真空下で濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、重炭酸ナトリウム液、水、1N塩酸及び水で連続的に洗浄した。酢酸エチルを真空下で除去し、油状生成物を精製せずにケン化した。

2. -OMeカルボキシ末端“保護”基の除去

前記実験からの油状生成物をメタノール(200ml)に溶解し、2N水酸化ナトリウム(25ml)で1時間処理した。メタノールを減圧下で除去し、残渣を水に溶解し、6N塩酸で酸性化した。生成物を酢酸エチルで抽出し、有機層を水洗し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。酢

酸エチルを真空下で除去し、残渣をヘキサンで摩砕した。生成物を薄層クロマトグラフィーによりクロロホルム：メタノール：酢酸（95：4：1）を用いてチェックした。

3. Z-Lys-Pro-Val-OBe の製造

トリペプチドの合成に関する次の工程では、カルボキシ保護バリン残基(Val-OBe)の付加を要した。この場合の保護基はベンジルエステルであった。

上記工程2から得られたZ-Lys-Pro 37 mmol (19 g)を蒸留テトラヒドロフラン200 mlに溶解した。この溶液及びN-メチルモルホリン4.1 mlを互いに混合し、攪拌下-15℃に冷却した。クロロギ酸イソブチル(5 ml)を加え、混合物を-10℃で5分間攪拌した。上記と平行して、バリンベンジルトシレートエステル35 mmol (13.2 g)をジメチルホルムアミド100 mlに溶解した。混合物を-10℃に冷却し、N-メチルモルホリン(4 ml)で中性化した。これを上記混合無水物に加え、一夜攪拌した。次いで、混合物から尿酸を除去し、濾液を真空下で濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、重炭酸ナトリウム液、水、1 N塩酸及び水で連続的に洗浄した。粗生成物をシリカゲルカラム上でクロロホルム：メタノール(95：5)を用いて精製した。純粋生成物含有分画を薄層クロマトグラフィーにより工程2の場合と同様の溶媒を用いて調べた。適切な分画をプールした。

初に断頭により殺した。血液をヘパリン処理無発熱物質ビーガー中に集めた。50 mlのヘパリン処理ガラス遠心管を全血で3/4まで満たし、塩水を加えて各管を一杯にし、溶液を穏やかに混合した。次いで、管を低速で20分間遠心分離した。軟膜を除去し、無発熱物質フラスコに入れた。赤血球層の半分量に等しいラクトートリンゲル溶液を、同じくリンゲル溶液(1 µg/ml)中サルモネラ・チフォサエンドトキシン【ジフコ(Difco) №0901】と共に軟膜に加えた。混合物を恒温水浴中38℃で4時間インキュベートした。溶液を遠心分離し、遠心し【ナルゲン(Nalgene), 0.20ミクロン】、白血球性発熱物質含有濾液を4℃で貯蔵した。白血球性発熱物質のサンプルを70℃で2時間加熱し、エンドトキシン汚染に関して試験するために計注した。唯一の特徴である白血球性発熱物質による発熱のみが生じて、長時間の発熱が観察されなかったことは、白血球性発熱物質がエンドトキシン及び他の熱安定性発熱物質を含有していないことを示していた。

注射液は容量50 µlであって、塩水20 µlが追加された。耳鼓部の静脈から注射した。白血球性発熱物質静注液は、ドナー4体から得られた白血球性発熱物質の混合物からなる貯蔵溶液0.07 mlであった。注射時、白血球性発熱物質貯蔵溶液を非発熱性等張塩水で希釈した。注射は市販非発熱性シリンジで行われた。ガラス製

4. 保護基Z-及び-OBeの除去

上記工程3で製造された保護トリペプチド9 gにPd/BaSO₄存在下酢酸・水・メタノール混合物中で一夜水素添加した。それから触媒を濾去し、濾液を真空下で蒸発させて、油状残渣を得た。これを無水エタノール無水エーテルで摩砕し、結晶生成物3 gを得た。生成物を薄層クロマトグラフィーによりブタノール：酢酸：水：ピリジン(20：6：11：24)からなる溶媒系を用いてチェックした。

ジアセチル・L-リシル・L-プロリル・L-バリル・NH₂の化学的合成

ジアセチル・L-リシル・L-プロリル・L-バリル・NH₂の保護トリペプチドは、工程1～3で上記された化学的技術によっても製造することができる。例えば、工程1における出発物質はジアセチル化リシンになる。工程3において、バリン・ベンジルエステルはバリル・アミドで代用される。

例II：L-Lys-L-Pro-L-Valの解熱活性

白血球性発熱物質の産生

白血球性発熱物質は哺乳動物において一過性発熱を生じうる分子であって、これはウサギ白血球をサルモネラ・チフォサ(Salmonella typhosa)エンドトキシンとインキュベートすることにより産生される。更に詳しくは、白血球性発熱物質を産生するために、ドナーウサギを最

品をクロム酸で洗浄し、脱イオン水で再洗浄し、最少2時間にわたり200℃に加熱して、それが確実に無発熱物質であるようにした。

動物の取扱法

成熟ニュージーランド種白ウサギを解熱アッセイ操作に用いた。ウサギを21、23℃の12時間明/暗サイクル環境下で個々に飼育したが、食物及び水は無制限に与えられた。解熱剤の中樞神経系注射を以下のように行った：動物を塩酸ケタミン及びプロマジン【ケタセット・プラス(Ketaset Plus), ブリストール・ラブス(Bristol Labs), 0.4 ml/kg, 筋注】で前処理し、麻酔をメトキシフルオラン【メタファン(Metafane), ピットマン・ムーア社(Pitman-Moore, Inc.)】及びN₂O-O₂の吸入により誘導しかつ維持させた。ウサギをコフ(Kopf)ウサギ定位装置におき、ステンレススチールカニユーレ【№201, デビット・コフ・インスツルメンツ(Devld Kopf Instruments)】を前頭部の1.0 mm前かつ中線の2.7 mm側部の箇所の前部脳室内に挿入した。脳脊髄液がカニユーレのウェル内に現れるまで、カニユーレを押し下げた。ステンレススチールネジ及び歯科用アクリル樹脂を用いて、カニユーレを頭蓋骨に固定した。ベンザチンペニシリンG【ビシリン(Bicillin), ウェス・ラボラトリーズ(Vyeth Laboratories)】を術後投与した(150,000単位筋注)。

解熱研究に用いられる実験ウサギを採用的ホルダーで拘束し、サーミスタープローブ（イエロー・スプリングス・インターナショナル（Yellow Springs International）, No 701）を直腸内に約100mm挿入し、尾にテープで結び付けた。ある実験では、他のサーミスター（イエロー・スプリングス・インターナショナル, No 709）を耳の背側表面に付着させた。温度記録をデジタル温度記録計（データロッガー（Datalogger）, ユナイテッド・システムズ社（United Systems Corp.））に接続されたMINC11オンラインコンピューターで10分間毎に行った。プローブ挿入後少なくとも1時間経過した後、注射を行ったが、すべての実験で少なくとも48時間の間隔をあけた。実験は環境室中23℃で行った。

平均熱応答性、即ち数時間にわたり測定された応答期間中における温度の平均変化（℃）を各応答毎に計算したが、その際にデータの統計学的分析に関して対検定を用いた。実験的解熱温度応答性が測定された時間は、通常個々の動物のコントロール応答時間に応じて設定された。コントロール応答はベースライン温度から最初の偏差を生じた時点で始まり、温度がベースライン又は5時間以内で最もベースラインに近いところに戻るまで続く。この時間内において各々10分間隔毎の平均温度変化が合計され、10分間の総数で割られる。

かった。

例Ⅲ：保護トリペプチド ジアセチル・L-Lys-L-Pro-L-Val-NH₂ の解熱活性

アセチル化されかつアミド化されたジアセチル・L-リシン・L-プロリン・L-バリン・NH₂トリペプチドの中枢投与により、観察される解熱作用が増強すると共に作用期間が増加した。白血球性発熱物質の静注投与による発熱は、保護ペプチド0.5mgで50%以上低下した。作用期間は、非保護トリペプチドの場合に観察される1.5時間（例Ⅰ参照）に対して少なくとも4時間であった。保護トリペプチドの用量を少なくさせるに従い、それに対応して解熱効果も低下した。

例Ⅳ：ジアセチル・L-Lys-L-Pro-L-Val-NH₂ 及び銅イオンの解熱活性

保護ペプチド0.5mgを中枢投与しかつ銅イオン（塩化第二銅1～10mg）を中枢又は末梢のいずれかから投与した場合に、解熱効果は著しく増大し、多量の銅α-MSHで観察された場合と同様の体温低下が生じた。このような保護ペプチドは、非保護トリペプチドより少なくとも4倍有効である。正常温度では効果を有しない用量で銅イオンを付加した場合には、保護ペプチドの解熱及び体温低下効果を著しく高めた。

アッセイプロトコール及び結果

上記のようにトリペプチドL-Lys-L-Pro-L-Valが合成された後、直ちにそれを無菌非発熱性等張塩水に溶解し、使用直前までアリコートで凍結貯蔵した。いずれのトリペプチド注射が行われる前に、発熱物質に対するその感受性を確認しかつエンドトキシン活性を調べるために、各動物毎に白血球性発熱物質について試験した。

試験動物を発熱させるために、白血球性発熱物質の貯蔵溶液0.15mlを耳縁部の静脈から注射した。いくつかのバッチからの発熱物質を用いたが、但し各動物は各種の実験全体を通して同一バッチからの発熱物質を受容した。

トリペプチド注射液を発熱物質投与30分後脳室内カニューレ中に入れた。トリペプチドの中枢投与により、解熱が観察された。熱低下率は、見かけのペプチド作用期間（1.5時間）にわたるコントロール熱曲線下の面積減少率として計算された場合に、0.5、1.0及び2.0mg用量のときで各々24%、31%及び48%であった。同様に、トリペプチド2、20及び200mg静注投与の場合には、白血球性発熱物質注射後1.5時間にわたり各々34%、27%及び67%熱を低下させた。コントロール塩水注射では、中枢投与された場合に、体温の有意な低下がなかった。同様に、200mg注射が無熱ウサギに行われた場合にも、体温の低下は観察されな

例Ⅴ：抗炎症活性

トリペプチドの抗炎症活性は、参考のため本明細書に組込まれるスパロー及びウィルヘルム、1957年、ジャーナル・オブ・フィジオロジー、第137巻、第51-65頁（Sparrow and Vilhela, (1957). Journal of Physiology, 137:51-65）により開発された動物モデルを用いて立証された。このモデルは、ヒスタミンの局所皮下注射が毛細血管透過性を局所的に増加させるという原理に基づいている。試験動物を青色色素の静注で前処理した場合、局所ヒスタミン注射は注射部位周囲で青色の“はれ”を発現させる。したがって、効果的抗炎症剤の前投与により、ヒスタミン起因性はれの青色が著しく抑制され、その場合に発色抑制量は使用された抗炎症剤の相対量及び/又は効力に依存する。

非脱毛（non-moulting）ニュージーランド白ウサギをスパロー／ウィルヘルムアッセイに用いた。ウサギ背皮膚から実験の1～2日前に脱毛せずに毛を十分に刈り込み、試験開始までウサギを暖めておいた。様々な量の保護トリペプチド（ジアセチル・L-Lys-L-Pro-L-Val-NH₂）を青色色素静注の約15分前に耳静脈から注射した。コントロールウサギは偽薬注射を受けた。薬物及び偽薬注射の15分後に、ウサギに0.45%塩水中2.5%溶液としてポンタミン（Pontamine）青色色素30mg/kgを露出静脈から投与した。

色素注射後直ちに、ヒスタミンを脊椎の各側の数箇所において0.10ml容量(ヒスタミン1.25mg/0.1ml容量)皮内注射した。すべての場合に、縦1列で6回の注射が脊椎の各側で行われた。生じた青色はれの相対的強度は、ヒスタミン注射の30分後に独立の観察者によって評点された。結果は下記第1表で示されている。

第1表: トリペプチドの抗炎症活性

試験動物	トリペプチド用量 ⁺	結果
3 (2E, 1C) *	5	EはCより軽度
2 (1E, 1C)	10	EはCより軽度
2 (1E, 1C)	5	EはCより軽度
2 (1E, 1C)	1.25	EはCより軽度
2 (1E, 1C)	0.625	差異なし

* E-実験; C-コントロール

⁺ 静注投与されたkg体重当たりの保護トリペプチドμg用量

第1表に示された結果から明らかなように、トリペプチド1.25μg/kg体重以上の静注用量ではヒスタミン起因性青色はれの明らかな抑制がみられ、その結果有効な抗炎症作用を示している。5~10μg/kgの用量でも、観察された応答性は一層顕著であった。同様に明らかなように、トリペプチドの抗炎症効果はその解熱効

塩水(同容量、N=12)の腹腔内注射を各ラットに行った。1時間後、1%λ-カラゲナン塩水溶液0.5mlを動物の右後足に注射し、足容量を再度記録した(ペースライン測定)。しかる後、足容量を4時間にわたり毎時間測定した。2つの処理効果の比較のために、1時間間隔で測定された実験動物の足容量をそれら各々の対照コントロールに対する容量変化率として示した。

この実験結果は第2図に示されている。このデータから明らかなように、ヒドロコルチゾンが膨脹を著しく阻害した($p < 0.05$, マン-ホイットニー(Mann-Whitney)試験)最初の1時間を除き、トリペプチド及びヒドロコルチゾンによる足浮腫阻害に関して有意差はなかった($p > 0.20$)。これらの結果は、若干の時間経過に差異があるものの等重量用量で投与された場合にトリペプチドが古典的抗炎症剤の場合と同様に炎症を阻害することを示した。本結果並びにヒトにおけるヒドロコルチゾン及び炎症の公知の効果に基づき、本トリペプチド(Lys-Pro-Val)はヒドロコルチゾンの場合と著しく異なる投与量でヒトの炎症を抑制するために使用しうるものと結論付けられた。

前記発明は、実例及び例としてかつ本発明者により用いられた標準的実験技術に関して記載されてきた。これらの方法のある変更及び修正が本発明の精神及び範囲から逸脱することなく行いうることは、当業者にとって明

果に比較して一層低い用量で観察される。

例VI: カラゲナン/ラット足浮腫アッセイ

抗炎症活性に関する第二のインビボバイオアッセイでは、トリペプチドの作用をヒドロコルチゾンの場合と比較して行われた。このアッセイでは、2種の薬剤が同用量で投与され、ラット足のカラゲナン起因性膨脹を阻害しうるそれらの独立した能力に関して試験された。このラット足浮腫試験アッセイは、例えばウィンターら、1962年、プロシーディング・オブ・ザ・ソサエティ・オブ・ア・エクスペリメンタル・バイオロジー・アンド・メディシン、第111巻、第544頁(Winter et al (1962). Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine, 111:544)又は米国特許第4,150,137号明細書に記載されているように、通常当業界で典型的な実施法に従い行われた。

簡単に言えば、アッセイは下記のように行われた。24匹の雄性スプラーグ・ドーリー系(Sprague-Dawley)ラットの各々を、4群: 即ちトリペプチド処理及びコントロール(体重及び初期足容量が同等)並びにヒドロコルチゾン処理及び対照コントロールのうちの1つに振り分けた。試験及びコントロール動物の右後足容量を、標準的方法で水銀置換容量測定技術により測定した。トリペプチド($\text{Ac-Lys-Pro-Val-NH}_2$, 100mg/kg, N=6)、ヒドロコルチゾン(100mg/kg, N=6)又は

らかであろう。例えば、化学的合成トリペプチドがその解熱活性を立証するために用いられたが、天然源から単離されたトリペプチドも同じく十分に機能しうるものと本発明者により考えられている。更に、いずれの銅塩の投与であっても、それが硫酸塩、塩化物であるか又は他のある類似の銅塩であるかにかかわらず、トリペプチドの活性を高めるうえで塩化物塩と同様に活性であるにちがいないことは明らかであろう。同様に、活性は静注又は中絶のいずれかで投与されたトリペプチドを用いて立証されたが、更に高い用量であれば経口投与されたトリペプチドであっても熱を低下させるうえで活性であろう。これらの及び他の修正及び変更が添付された請求の範囲の中に属することは、当業者であれば明らかであろう。

平成 1 年 2 月 8 日

特許庁長官 吉 田 文 毅 殿

1. 特許出願の表示

PCT/US 87/01994

2. 発明の名称

解熱及び抗炎症性ペプチド類

3. 特許出願人

住 所 アメリカ合衆国テキサス州、オースチン、ウェスト、セブンス、ストリート、201

名 称

ボード、オブ、リージェンツ、
ザ、ユニバーシティー、オブ、テキサス、システム

4. 代 理 人

(郵便番号 100)

東京都千代田区丸の内三丁目2番3号

(電話東京 (211)2321大代表)

6428 弁 理 士 佐 藤 一 雄

5. 補正書の提出年月日

1988年 9 月29日

6. 添付書類の目録

(1) 補正書の翻訳文

1 通



815-817頁(Peptides, Vol.5(1984), pages 815-817))は、中枢又は末梢いずれかの投与後のウサギにおける熱低下のためのLys-Pro-Val トリペプチドの使用について開示している。この論文では、炎症に治療に際して本トリペプチドのいかなる効果についても説明又は示唆すらしていない。

本発明は、炎症治療用の薬剤として使用されるペプチドの製造に際してのトリペプチド配列Lys-Pro-Val の用法について提供する。」

2. 第17頁第1行目～第5行目を下記のように補正する。

「下記例で用いられたトリペプチドは、下記のようにカリフォルニア州トランス(Torrance)のパチェム社(Bachem, Inc.)により外注合成された:」

3. 第19頁第18行目を下記のように補正する。

「下記実験は、上記で合成されたペプチドの解熱活性について説明している。

実験1: L-Lys-L-Pro-L-Val の解熱活性」

4. 第24頁第2行目～第3行目を下記のように補正する。

「実験2: 保護トリペプチド ジアセチル-L-Lys-L-Pro-L-Val-NH₂ の解熱活性」

5. 第24頁第13行目～第14行目を下記のように補正する。

淨書(内容に変更なし)

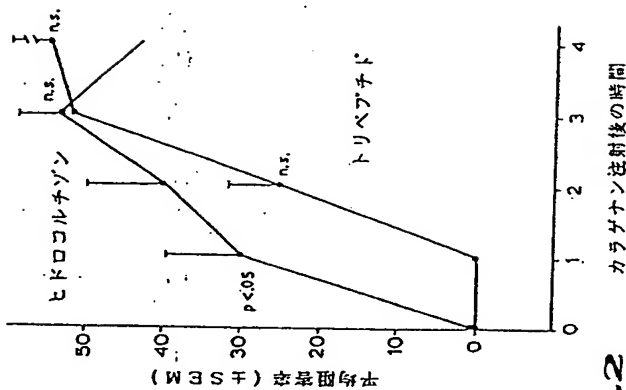


Fig. 2

α-MSHのアミノ酸配列

NH₂-セリン-チロシン-
メチオニン-グルタミン-
ヒスチジン-フェニルアラニン-
アルギニン-トリプトファン-
グリシン-リシン-プロリン-
バリン-COOH

Fig. 1

1. 和文明細書第3頁第20行目～第4頁第15行目を下記のように補正する。

「α-MSHの解熱効力及びこのペプチドが末梢投与された場合であっても熱を低下させるという事実は、臨床重要であろう。当業界において、ACTH(ヒト副腎皮質刺激ホルモン)が臨床的及び実験的発熱を低下させるために用いられていることは既に公知であった。プロオピオコルチンのアミノ酸1-39に相当するACTHは、炎症の治療に際して活性であることも公知であった。この活性はACTHの副腎皮質ステロイド刺激作用の結果であって、繰返し投与時に望ましくない副作用としてクッシング症候群を引き起こすことがある。

証拠1 (ジャーナル・オブ・リウマチロジー、第12巻、1985年、第971-975頁(Journal of Rheumatology, 12(1985), pages 971-975)) から、短鎖ACTH由来ペプチドα-MSH (ACTHのアミノ酸1-13) が尿酸塩結晶と共にラット後足に注射された場合に膨脹低下作用を有することは既に公知であった。この論文では、ペプチドのいずれのペプチジル部分が炎症に関して有用であるか否かについて示しておらず、實際上、長鎖ペプチドが抗炎症性の傾向があり、一方短鎖化合物が炎症を促進させる傾向のあることを示唆しているようである(第1欄、第975頁参照)。

証拠2 (ペプタイデス、第5巻、1984年、第

【実験3: ジアセチル-L-Lys-L-Pro-L-Val-NH₂ 及び銅イオンの解熱活性】

6. 第25頁第1行目～第7行目を下記のように補正する。

【例1: 抗炎症活性】

トリペプチドの抗炎症活性は、スパーロー及びウィルヘルム、1957年、ジャーナル・オブ・フィジオロジー、第137巻、第51-65頁 (Sparrow and Vilhelm (1957), Journal of Physiology, 137:51-65) により開発された動物モデルを用いて立証された。」

7. 第27頁第2行目を下記のように補正する。

【例II: カラゲナン/ラット足浮腫アッセイ】

1. 炎症治療用薬剤として使用されるペプチドの製造に際する、トリペプチド配列Lys-Pro-Val 又はかかる配列の生物学的機能同等物の用法。

2. ペプチドがトリペプチドLys-Pro-Val である、請求項1に記載の用法。

3. トリペプチドがそのアミノ又はカルボキシ末端で保護されている、請求項2に記載の用法。

4. 保護トリペプチドがそのアミノ末端でアシル化されているか又はそのカルボキシ末端でアミド化されている、請求項3に記載の用法。

5. 保護トリペプチドがそのアミノ末端でアシル化されかつそのカルボキシ末端でアミド化されている、請求項3に記載の用法。

6. 保護トリペプチドがそのアミノ末端でアセチル化されかつそのカルボキシ末端でアミド化されている、請求項3に記載の用法。

手続補正書 (方式)

平成 1 年 10 月 3 日

特許庁長官 吉田 文 毅 殿

1. 事件の表示

PCT/US 87/01994

2. 発明の名称

解熱及び抗炎症性ペプチド類

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

ボード、オブ、リージェンツ
ザ、ユニバーシティ、オブ、
テキサス、システム

4. 代理人 (郵便番号 100)

東京都千代田区丸の内三丁目2番3号
電話東京 (211) 2321 大代表

6428 井 理 士 佐 藤 一

5. 補正命令の日付

平成 1 年 9 月 20 日

(発送日 平成 1 年 10 月 3 日)

6. 補正の対象

特許法第184条の5第1項の規定による書面の出願人及び
発明者の欄、委任状、図面翻訳文

7. 補正の内容

(1) 別紙の通り

(2) 図面翻訳文の浄書 (内容に変更なし)

国際調査報告

International Application No. PCT/US 87/01994		
CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER by search classification on subject appn, possible in 1		
According to International Patent Classification (IPC) or to both International Classification and IPC		
IPC: A 61 K 37/02		
N. FIELD SEARCHED		
Minimum Documentation Required		
Classification System	Classification Symbols	
IPC	A 61 K 37/00	
Documents Examined other than Minimum Documentation in the Event that such Documents are Included in the Field Search		
B. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Extent of Search	Relevance to Claim No. 1
X, Y	J. Rheumatol., volume 12, no. 3, October 1985, C.W. Denko et al.: "Effects of peptide hormones in urate crystal inflammation", pages 971-975 see the whole document	1-7
Y	Peptides, volume 5, no. 4, 1984, Ankh International Inc., (US), D.B. Richards et al.: "Effect of α-MSH 11-13 (lysine-proline-valine) on fever in the rabbit", pages 815-817 see the whole document	1-7
X, Y	The Journal of Immunology, volume 137, no. 7, 1 October 1986, American Association of Immunologists, (US), J.G. Cannon et al.: "Melanocyte stimulating hormone inhibits immunostimulatory and inflammatory actions of interleukin 1", pages 2232-2236 see the whole document	1-7
* Basic sequence of cited documents: "A" documents published during the period of the search are cited in the search report and in the international search report. "B" documents published after the period of the search are cited in the search report and in the international search report. "C" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "D" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "E" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "F" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "G" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "H" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "I" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "J" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "K" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "L" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "M" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "N" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "O" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "P" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "Q" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "R" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "S" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "T" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "U" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "V" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "W" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "X" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "Y" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report. "Z" documents which may be cited as prior art are cited in the search report and in the international search report.		
B. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
12th February 1988	15 APR 1988	
International Searching Authority		
EUROPEAN PATENT OFFICE		
Form PCT/ISA/210 (Revised March 1986)		

第1頁の続き

優先権主張

②1987年7月23日③米国(U S)④076,625